云　南　植　物　研　究　2006，28（6）：645～648
Acta Botanica Yunnanica

用细胞学方法研究番木瓜组培苗的遗传稳定性*

李卫东，王冬梅，黎小瑛，吴廷广，周　鹏**
（中国热带农业科学院 热带生物技术研究所 热带作物生物技术国家重点实验室，海南 海口　571101）

摘要：利用细胞学和形态学方法研究组织培养技术生产的番木瓜种苗的遗传稳定性。通过对番木瓜（2n = 18）主栽品种蔬罗 1 号 1～38 代组培苗体细胞的染色体数的初步观察和统计，发现 1～32 代苗所观察的体细胞染色体全部为 2n = 18，大田种植后表型与亲代相比未发生明显的变异。但是在第 33，36，37 代发现了染色体非整倍性的细胞，田间种植后与亲代相比挂果率和抗病性下降。这一研究结果为番木瓜组培苗的继代培养和规模化生产提供了有价值的理论依据。

关键词：番木瓜组培苗；染色体非整倍性；遗传稳定性
中图分类号：Q 942　　　　**文献标识码**：A　　　　**文章编号**：0253 - 2700(2006)06 - 645 - 04

Study on the Genetic Stability of *Carica papaya* (Caricaceae) Propagating Plantlets through Cytological Approach

LI Wei-Dong，WANG Dong-Mei，LI Xiao-Ying，WU Ting-Guang，ZHOU Peng**
（*State Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology*，*Institute of Tropical Biology Sciences*，
Chinese Academy of Tropical Agricultural Science，Haikou 571101，China）

Abstruct: The genetic stability of papaya propagating plantlets was studied through cytological and morphological approaches . Primary observation and account were held on chromosome numbers of propagating plantlets of papaya，Solo I，which is major cultivar of Hainan province from 1 to 38 generations . The results showed that the numbers of chromosome are all 18（2n = 18）from 1 to 32 generations . In addition，there were no difference compared with their parents when they were planted in the fields . Aneuploidy were found in the leaves of 33rd and 36th and 37th generations；the fructiferous rate and anti-virus character of them were dropped when the plantlets were planted in the field . This showed that there was some difference at the level of cell chromosome after cultured continuously for 32nd generation . This result could be a valuable theoretic concern for the tissue culture and industrialized produce of papaya propagating plantlets .

Key words: *Carica papaya* propagating plantlets；Aneuploidy；Genetic stability

番木瓜（*Carica papaya* L .）是热带、亚热带地区广泛栽培的多年生果树，果实含丰富的营养，特别是维生素类，未成熟果实含木瓜蛋白酶，果肉和皮可做食品或佐料，熟果可鲜食，亦可做果浆等，因此在医学、化工、食品、饲料业上都有广泛的应用（陈健等，2004；Kamaruzzaman，2005）。

番木瓜的花性复杂，因此用常规种子繁殖无法保证优良特征的稳定遗传，而且近年来普遍由于受番木瓜环斑病毒的侵染而告废园。美国于上世纪 90 年代中期获得转 PRVCP 基因的抗病毒番木瓜，并于 1997 年获美国 FDA 批准商业化生产（叶长明，2003），但目前无绝对抗环斑病病毒的番木瓜品种（黄建昌，2005），因此从大田中筛选出优质的相对抗病株系，运用组培快繁技术培

* 基金项目：国家 863 资助项目（2002AA241141），农业结构调整重大技术研究专项（06-09-02B）
** 通讯作者：Author for correspondence .　E - mail：zhpeng@hainan.net　电话：0898 - 66890687
收稿日期：2006 - 01 - 19，2006 - 04 - 07 接受发表
作者简介：李卫东（1978 - ）男，硕士研究生。E - mail：liweidong000@yahoo.com.cn

育出遗传稳定性高和相对抗病的优质种苗将很大程度上提高番木瓜的产量（翟应昌，1996：郭德章，2001），从而大大增加种植户的收益。植物组织经离体培养后遗传稳定性的保持在组培苗生产中是至关重要的技术环节。番木瓜继代次数与遗传稳定性的研究尚未见报道，本研究从细胞学角度及外部形态学观察来研究番木瓜的遗传稳定性，为番木瓜组培种苗的工厂化生产及良种繁育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试番木瓜品种为蔬罗1号。用于染色体观察的材料为番木瓜实生苗侧芽组织培养苗1～38代的叶片，以从田间取回的侧芽叶片作对照。

实验仪器为OLYMPUS BH-2显微镜，10×目镜，100×物镜。

1.2 培养基

1.2.1 继代培养基 MS + BA0.2 mg/L + KT0.3 mg/L + NAA0.1 mg/L + GA31.0 mg/L + ADS40 g/L + 30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂（pH = 5.8），26～28℃每日光照16 h，光照强度为2 000 lx，连续培养30 d。

1.2.2 生根培养基 MS + IBA0.2 mg/L + KT0.2 mg/L + NAA0.1 mg/L + ADS40 g/L + 30 g/L 蔗糖+ 6.5 g/L 琼脂（pH =5.8），26～28℃每日光照12 h，光照强度为1 500 lx，连续培养30 d。

1.3 材料准备与取样

（1）外植体取材、处理、预培养和继代培养按周鹏等（1995，2005）的方法，平均25 d转接1次。

（2）取样：取材时间为上午9：00，每代组培苗随机取100株，每株剪取一片嫩叶，材料的处理综合李懋学等（1991）、谭德冠等（2004）的方法进行，细胞学的观察平均每片叶为100个视野。

（3）生根培养及大田种植：每一代进行生根培养后，种植于大田，进行性状观察。

2 结果与分析

番木瓜主栽品种蔬罗1号组培苗连续继代培养38代，其中在前32代的番木瓜叶片细胞中未观察到染色体数目变异（图1：1）。然而在第33代、第36代、第37代组培苗中却发现了染色体非整倍性（2n = 18）的细胞（表1）。在第33代出现17条染色体的细胞（图1：2），占观察细胞总数的1/10000；第36代出现16条染色体的细胞（图1：5），占观察细胞总数的3/10000；第37代出现16条和17条染色体的细胞（图1：6a，6b），分别占观察细胞总数的1/10000和5/10000，而在第34代（图1：3）、35代（图1：4）、38代（图1：7）中没有发现非整倍染色体细胞，原因可能是观察材料数量不够多，或是观察过程中遗漏。

表1 番木瓜组培苗细胞染色体数目的变化

Table 1 The variation in chromosome number of papaya propagating plantlets during tissue culture

	继代次数 Propagating generations						
	1～32代	33代	34代	35代	36代	37代	38代
观察细胞总数 Number of observed cells	10，000	10，000	10，000	10，000	10，000	10，000	10，000
2n = 18 细胞数（%）Number of cells	100	99.99	100	100	99.97	99.94	100
2n = 17 细胞数（%）Number of cells	0	1	0	0	0	5	0
2n = 16 细胞数（%）Number of cells	0	0	0	0	3	1	0

大田种植后前32代组培苗与亲代比较，其外部形态和株性（图1：8）无明显变化，这和陈健（2004）研究的番木瓜组培苗大田种植株性稳定的结果一致。32代之后从外部形态上看没有出现很明显的变异，但植株的挂果率和抗病性下降了（图1：9～11）。

以上结果表明，番木瓜组培苗继代到32代时仍能很好地保持其遗传稳定性，32代后开始出现非整倍染色体细胞，这种变异会造成一些优良性状的丧失。由此推断利用快繁技术进行番木瓜组培苗的生产，32代之后遗传稳定性下降，一般不再继续作为继代培养的接种物。

3 讨论

组培快繁的原理是人为强制性地促使植株分化与脱分化，这难免在一定程度上影响它的遗传稳定性。组织培养的周期、继代次数、激素种类和配比、外源激素在体内的累积等引起的番木瓜细胞内体细胞染色体突变，这种变化多为劣变类型且是可以遗传给后代的（王纪方，1996）。基

因位于染色体上，因此染色体结构和数目的变化必然会导致遗传信息的改变。尽管观察到的染色体非整倍化变异率只有万分之几，但也可能引起番木瓜多性状的改变如挂果率和抗病性下降。周国辉（2001）指出番木瓜对病毒的抗性可以以细胞为单位而实现，单细胞某个或某些因子的变化即可影响到病毒在该细胞内的生活周期，进而可影响到整个组织和整个植株的抗病能力。

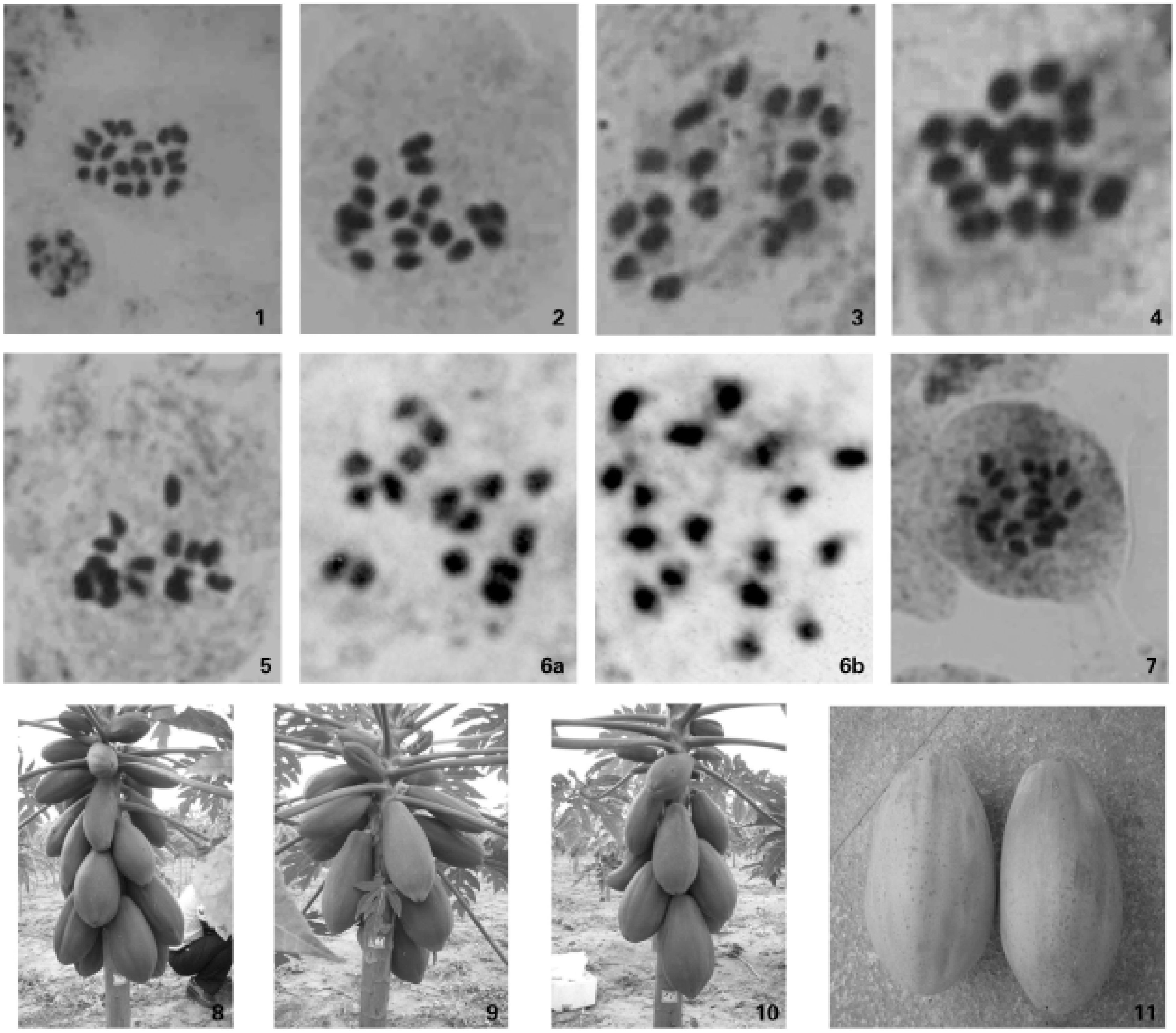

图 1　用细胞学的方法研究番木瓜组培苗的遗传稳定性结果

1．1～32 代（×1000）；2．33 代（×1000）；3．34 代（×1000）；4．35 代（×1000）；5．36 代（×1000）；6a，b．37 代（×1000）；7．38 代（×1000）；8．1～32 代挂果植株；9～10．32 代后的挂果植株图；11．32 代后的果实

Fig．1　The research result of papaya propagating plantlets genetic stability by cytology method

1．1-32 generations（×1000）；2．33 generation（×1000）；3．34 generation（×1000）；4．35 generation（×1000）；5．36 generation（×1000）；6a，b．37 generation（×1000）；7．38 generation（×1000）；8．fructiferous plant of 1-32 generations；9-10．fructiferous plants of being after 32 generations；11．the fruits of plants after 32 generations

在通过组织培养产生的植物群体中，变异是一种常见的现象。愈伤组织及其分化苗染色体非整倍性主要是由于培养基中激素浓度偏高引起的，而分生组织培养直接成苗在遗传上是相对稳定的（Xu 等，2001；徐培文等，1998）。根据我们的实验结果，番木瓜侧芽组培苗继代到第 32 代时仍能很好地保持其遗传性状，说明番木瓜侧芽组培苗遗传稳定性较好，而 32 代之后出现了染色体非整倍性变异，初步认为是随着继代次数的增加激素物质累积所致。

组培工厂化育苗技术可以全年快速的生产优质苗木，但最重要的是要保持组培苗优良的遗传性状。快繁因快速无性繁殖而得名，然而出现的不良性状也同样是快速增加。根据组织培养理论计算公式为：$Y = K \times X^n$，Y为1年的繁殖种苗数量；K为初始外植体接种量；X为分化系数；n为1年繁殖代数。以优良品种番木瓜疏罗一号组培苗扩繁为例，接种成功1个芽，分化系数为4，按1年繁殖10代计算：$Y = 1 \times 4^{10} \approx 1\ 048158$株，即一株优良品种1年可繁殖数十万到数千万株。同样出现一个非整倍染色体细胞，10代之后也是1 048158个这样的细胞，30代之后的数据将更令人吃惊，应用到大规模生产上这将是一个很严重的情况。因此在组培生产中应及时给予淘汰，否则将造成品种严重退化，导致经济上的巨大损失。本研究针对番木瓜疏罗1号进行了长期的跟踪研究，发现了继代次数与遗传稳定性存在一定的关系，这一结果对番木瓜的组培种苗规模化生产具有极为重要的实践意义。

〔参 考 文 献〕

李懋学，张敩方，1991．植物染色体研究技术［M］．哈尔滨：东北林业大学出版社

徐培文，马伟青，1998．大蒜组织培养材料染色体倍性变化研究［J］．山东农业科学，(5)：30—31

Chen J (陈健)，You KZ (游恺哲)，Lin GX (林冠雄)，*et al*，2004．The applied research of papaya stumpy stability through tissue culture technology［J］．*Guangdong Agricul Sci* (广东农业科学)，(3)：22—24

Guo DZ (郭德章)，Yan Z (鄢铮)，Lin QL (林庆良)，*et al*，2001．Advances and prospects in study on cytohistology and genetic improvement in *Carica papaya* L．［J］．*Fujian J Agricul Sci* (福建农业学报)，**16** (2)：49—55

Kamaruzzaman M，Chowdhury SD，Podder CK，*et al*，2005．Dried papaya skin as a dietary ingredient for broiler chickens［J］．*Br Poult Sci Jun*，**46** (3)：390—3

Huang JC (黄建昌)，Xiao Y (肖艳)，Zhao CX (赵春香)，2005．Advances and prospects on genetic improvement in *Carica papaya*［J］．*J Fruit Sci* (果树学报)，**22** (1)：60—65

Tan DG (谭德冠)，Zhuang NS (庄南生)，2004．*In vitro* culture and polyploidy induction of Eucalyptus 12*ABL*［D］．Tropical Agricultural University of South China (硕士论文)，38

Wang JF (王纪方)，1996．Produce of tissue culture for horticultural plants (3) rapid colone of eminent pieces［J］．*Appl Eng Thchnol Rural Areas* (农村实用工程技术)，**1**

Xu QJ，Chen D，Li GY，2001．Study on the variation of tillered-onoin chromosomes in vitro culture［J］．*J Northeast Agricul Univ* (English Edition)，**32** (4)：313—319

Ye CM (叶长明)，Wei XD (魏祥东)，Chen DH (陈东红)，*et al*，2003．Analyses of virus resistance and transgenes for transgenic papay［J］．*Hereditas* (遗传)，**25** (2)：181—184

Zhou GH (周国辉)，Li HP (李华平)，Zhang SG (张曙光)，*et al*，2001．Heredity and RAPD marker of papaya amutant resistance to PRSV［J］．*Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报)，**3** (2)：157—163

Zhou P (周鹏)，Zheng XQ (郑学勤)，Chen XM (陈向民)，1995．In vitro propagation of adult papaya Chinese［J］．*J Trop Crops* (热带作物学报)，**16** (2)：66—69

Zhou P (周鹏)，Li XY (黎小瑛)，Shen WT (沈文涛)，*et al*，2005．Establishment of a tissue culture for papaya Chinese［J］．*J Trop Crops* (热带作物学报)，**26** (1)：43—46

Zhai YC (翟应昌)，Zhou ZJ (周志坚)，Gong Z (龚峥)，1996．Propagation technique of trees by tissue culture［J］．*Guangdong Forest Sci Technol* (广东林业科技)，**12** (4)